УДК 595.123:591.3

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ГЛОТКИ В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ПЛАНАРИИ *DUGESIA LUGUBRIS* (TURBELLARIA, TRICLADIDA)

Ю. П. Канана

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины,
ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев, 01601 Украина

Принято 7 сентября 2009

Особенности формирования эмбриональной глотки в раннем эмбриогенезе планарии *Dugesia lugubris* (Turbellaria, Tricladida). Канана Ю. П. — Формирование эмбриональной глотки в раннем эмбриогенезе планарии *Dugesia lugubris* O. Schmidt, 1861 изучали на датированном материале. Установлено, что у *D. lugubris* в этот период эмбриональный кишечник не формируется. Также обсуждается вопрос трактовки эмбриональной глотки как случай рекапитуляции какого-то этапа филогении планарий или, более вероятно, как случай эмбриональной адаптации.

Ключевые слова: эмбриогенез, турбеллярии, планарии, эмбриональная глотка, эмбриональный кишечник.

Formation Peculiarities of Embryonic Pharynx in Early Embryogenesis of the Planarian *Dugesia lugubris* (Turbellaria, Tricladida). Kanana Yu. P. — We studied the formation of embryonic pharynx in early embryogenesis of the planarian *Dugesia lugubris* O. Schmidt, 1861 using dated material. It is shown that there is no formation of the embryonic gut in *D. lugubris* during this time. The possibility that the embryonic pharynx can be considered as a case of either recapitulation of some stage in the phylogenesis of the planarians or, more likely, of embryonic adaptation, is discussed.

Key words: embryogenesis, turbellaria, planarian, embryonic pharynx, embryonic gut.

Введение

Триклады относятся к группе плоских червей с неофорным уровнем организации. В отличии от Archoophora, у этих животных в процессе эволюции яичники разделились на гермарий (собственно яичник) и вителярий (желточник). В гермарии образуются алецитальные яйцевые клетки, а в вителярии ооциты превращаются в так называемые желточные клетки (Иванова-Казас, 1975). Желточные клетки, заключенные вместе с оплодотворенным яйцом в общей капсуле, или коконе, служат пищей развивающемуся зародышу. Этим настоящие желточные клетки высших плоских червей отличаются от так называемых желточных, правильнее говоря питающих, или пищевых, клеток других животных (коловратки, насекомые), которые служат для питания еще неоплодотворенной яйцеклетки (Беклемишев, 1964). Формирование этих экзолицетальных яиц вместе с многочисленными желточными клетками значительно модифицировало эмбриональное развитие Neoophora в целом и Tricladida в частности. Оно отклоняется от плезиоморфного спирального типа дробления характерного для Archoophora, в частности Acoela и Polyclada (Tomas, 1986; Tekaya et al., 1999).

Среди особенностей такого модифицированного развития мы хотели бы обратить внимание на формирование эмбриональной глотки и ее интерпретацию в филогенетическом контексте. Следующим моментом в описании ранних этапов эмбрионального развития планарий является формирование эмбрионального (провизорного) кишечника. Так, в литературе обычно упоминается наличие хорошо отграниченного эмбрионального кишечника. В то же время некоторые исследователи указывают на его отсутствие (Tekaya et al., 1999).

Эти и другие вопросы остаются без ответов, поэтому мы предприняли попытку изучения раннего периода эмбрионального развития планарий на примере *Dugesia lugubris* O. Schmidt, 1861.

Материал и методы

Исследуемых планарий содержали в аквариумах объемом 1–4 л в отстоянной водопроводной и кипяченой воде в соотношении 2 : 1 при температуре 18–21°C. Кормили их трубочником (*Tubifex* sp.) или мотылем (*Chironomus* sp.) 2 раза в неделю.

Для получения свежеотложенных коконов каждый час проводили осмотр стенок аквариумов и растений. Отложенные коконы инкубировали в чашках Петри отдельно от взрослых планарий во избежание каннибализма. Коконы извлекали для последующих исследований с интервалом в 1 ч в течение 1–6 ч после откладывания кокона, затем через 12 ч, и от 1 до 4 сут с интервалом 24 ч.

При подготовке материала использовали традиционные для светооптических исследований методы: фиксацию жидкостью Буэна, дегидратацию этанолом и заливку в парафин. Серийные срезы коконов окрашивали железным гематоксилином Гейденгайна (Ромейс, 1953).

Изучение постоянных препаратов проведено на микроскопе МБИ—6. Размеры структур определяли с помощью окуляр-микрометра общепринятым способом. Съемку проводили с помощью микроскопа Axio Imager M1 Zeiss и программного обеспечения Zeiss Axio Vision v.4.63 в центре коллективного пользования уникальным оборудованием при Институте зоологии.

Результаты

На третьи сутки развития мы идентифицировали первые элементы строящейся эмбриональной глотки на одном из полюсов эмбриона. На верхушке глотки, направленной вглубь синцития, неоднократно находили три бластомера, лежащих в виде секторов окружности (рис. 1). Количество клеток, формирующих глотку, увеличилось к периферии. Они располагались концентрическими кругами вокруг нескольких внутренних клеток (рис. 2).

На 4-е сутки обнаруживались эмбрионы с частично или полностью заглоченными желточными клетками. При этом синцитий с бластомерами отодвинут на периферию эмбриона и имеет вид тонкой каемки (рис. 3). С внешней стороны эта каемка ограничена плоскими вытянутыми клетками эмбрионального эпителия, а внутренняя сторона не имеет никаких видимых границ. В ее составе мы находили редко расположенные округлые эмбриональные клетки, свободные ядра синцития, глыбки хроматина и желточные капельки. Также мы обнаружили несколько больших округлых образований, примерно 50 мкм в диаметре. Они содержали капельки разного размера и цвета, светлые вакуоли и такие же базофильные глыбки, как и в желточном синцитии. Два таких образования постоянно находили возле эмбриональной глотки (рис. 4, *а*).

Изменился внешний вид эмбриональной глотки (рис. 4, *б*). Отверстие глотки окружали вытянутые клетки, а наружные клетки глотки имели вид тяжей. Внутренний просвет глотки покрывали, образовав плотное кольцо, уплощенные клетки. Между внешней и внутренней стенками эмбриональной глотки образовалась сетчатая структура с базофильными волокнами и одиночными мелкими клетками (рис. 4, *в*). В глотке постоянно находили две клетки, отличающиеся от остальных (рис. 4, *б*). У них светлое ядро с большим ядрышком, неравномерно распределенная цитоплазма: больше в дистальной части, чем в проксимальной. От нее отходил цитоплазматический отросток вдоль внутренней стенки эмбриональной глотки. Тела этих клеток ориентированы вглубь тела эмбриона.

Обсуждение

Описание строения эмбриональной глотки планарий было приведено в работах Е. Матиесен (Mattiesen, 1904), М. Стивенс (Stevens, 1904) и Б. Фулински (Fulinski, 1916), но наиболее детальное описание дал А. Лемонь (Le Moigne, 1963). По данным этого автора, в состав эмбриональной глотки входят: 4 мелкие клетки на уровне будущего рта; 4 крупные, которые оформят внутреннюю часть глотки; 4 клетки, расположенные полумесяцем вокруг предыдущих и которые дадут в развитии наружную поверхность глотки; в пространство между двумя последними группами проникает несколько мелких клеток (автор не показывает их на рисунке), которые формируют ретикулярную ткань глотки; 4 промежуточные клетки между глоткой и зачатком кишечника поверх внутренних клеток и 4 клетки, ограничивающие эмбриональную кишку. И. И. Мечников (Metschnikoff, 1883) предполагал, что 4 внутренние клетки эмбриональной глотки, которые считались

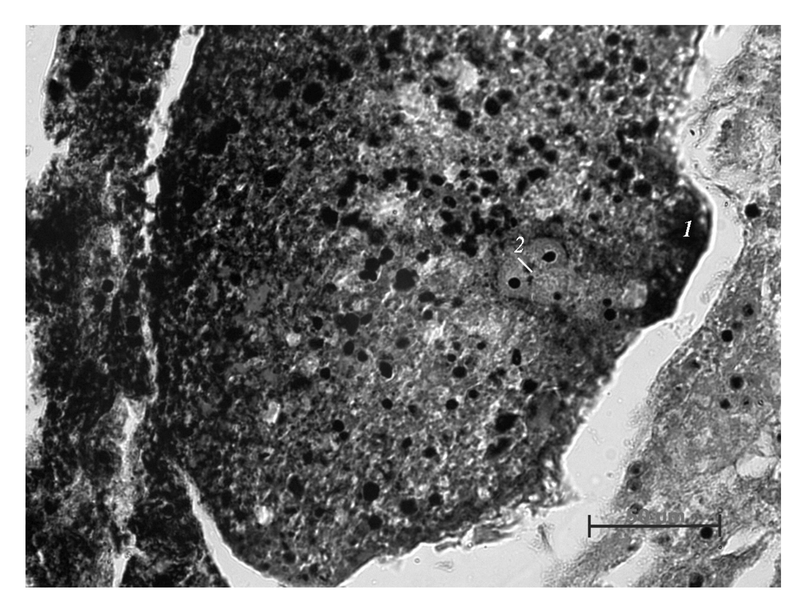


Рис. 1. Бластомеры, образующие эмбриональную глотку (3-и сутки эмбриогенеза): *1* — эмбрион; *2* — бластомеры. Масштабная линейка 50 мкм.

Fig. 1. Blastomeres forming embryonic pharynx (3-d day of embryogenesis): *1* — embryo, *2* — blastomeres. Scale bar 50 μm.

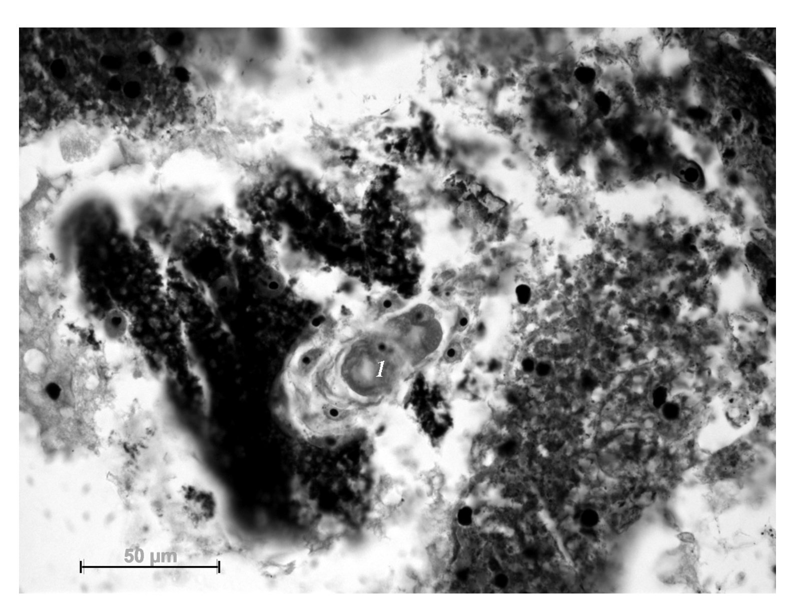


Рис. 2. Поперечный срез через эмбриональную глотку (*1*). На 3-и сутки эмбриогенеза. Масштабная линейка 50 мкм.

Fig. 2. Cross-section through the embryonic pharynx (*1*). On 3-d day of embryogenesis. Scale bar 50 μm.

авторами первичной энтодермой, могут играть роль клапана, предотвращающего выход желточных клеток. Этим клеткам, скорее всего, соответствуют внешние и внутренние замыкающие клетки, выделенные Б. Фулински (Fulinski, 1916) в эмбриональной глотке *Dendrocoelum lacteum* Müller, 1774. Мы отводим эту роль внутренним клеткам с цитоплазматическими отростками, отходящими вдоль просвета глотки (рис. 4, *б*).

А. Лемонь (Le Moigne, 1963) наблюдал, что эмбриональная глотка становится функциональной и начинает заглатывать внешние желточные клетки у *Polycelis nigra*

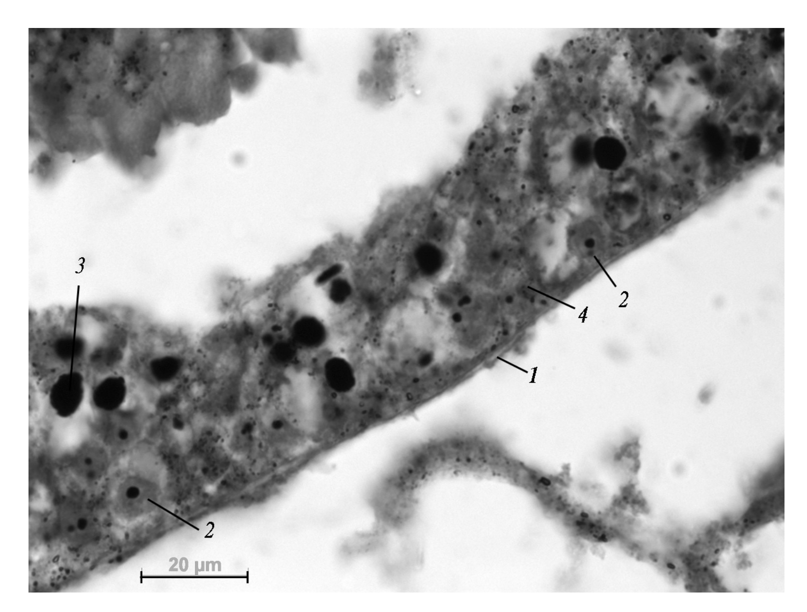


Рис. 3. Зародышевая полоска (4-е сутки эмбриогенеза): *1* — клетки эмбрионального эпителия; *2* — эмбриональные клетки; *3* — свободные ядра синцития; *4* — желточные капли. Масштабная линейка 20 мкм.

Fig. 3. Germ band (4-th day of embryogenesis): *1* — embryonic epithelium cells, *2* — embryonic cells, *3* — free nuclei of syncytium; *4* — yolk droplets. Scale bar 20 µm.

Müller, 1774 в период 3—7 сут после откладки кокона. С. Текая с коллегами (Tekaya et al., 1999) обнаружили вхождение желточных клеток через просвет глотки у 4—5-дневных эмбрионов. Абсорбция желточных клеток, по нашим данным, начинается к 4-м суткам, что соответствует данным этих авторов.

Синцитиальный желточный слой с бластомерами отодвигается на периферию (с 4-х сут). Е. Матиесен (Mattiesen, 1904) назвал его зародышевой полоской. По мнению многих исследователей конца XIX начала XX ст снаружи она отграничена провизорной эктодермой, а изнутри — провизорной энтодермой (Metschnikoff, 1883; Iijima, 1884; Mattiesen, 1904 и др). Б. Фулински (Fulinski, 1916) в свою очередь отводит им роль внешней и внутренней эмбриональной оболочки. В литературе неизменно упоминается хорошо отграниченный эмбриональный кишечник. В то же время некоторые исследователи указывают на его отсутствие (Tekaya et al., 1999). Наши данные не подтверждают наличие кишечника у *Dugesia lugubris* в этот период. Проглоченные желточные клетки не были отграничены от зародышевой полоски (рис. 3). Кишечник подразумевает наличие эпителизированной трубки, а такую структуру мы не обнаружили. Эти данные подтверждают результаты (Cardona et al., 2006), полученные при использовании электронного микроскопа, которые не нашли эпителиального слоя между проглоченными желточными клетками и синцитием.

Рядом с эмбриональной глоткой мы неизменно находили два крупных образования (рис. 4, *а*). Ряд исследователей называют их кишечными клетками — gut cells (Cardona et al., 2006). По внешнему виду они напоминают элеоциты в полостной жидкости некоторых полихет. Это крупные клетки, в протоплазме которых содержится большое количество жировых капель приблизительно одинаковой величины, и, кроме этого, в них имеются оксифильные гранулы. Наконец, там же встречаются зерна и кристаллы бурого и желтого цвета, несомненно, экскреторного характера. Элеоциты, по-видимому, способны к фагоцитозу. Во всяком случае, в их протоплазме встречаются частицы тканей или даже целые полостные клетки, несомненно, ими как-то заглоченные (Заварзин: 1953: 144). Эту роль А. Кардона с сотрудниками (Cardona et al., 2006) отводят кишечным клеткам

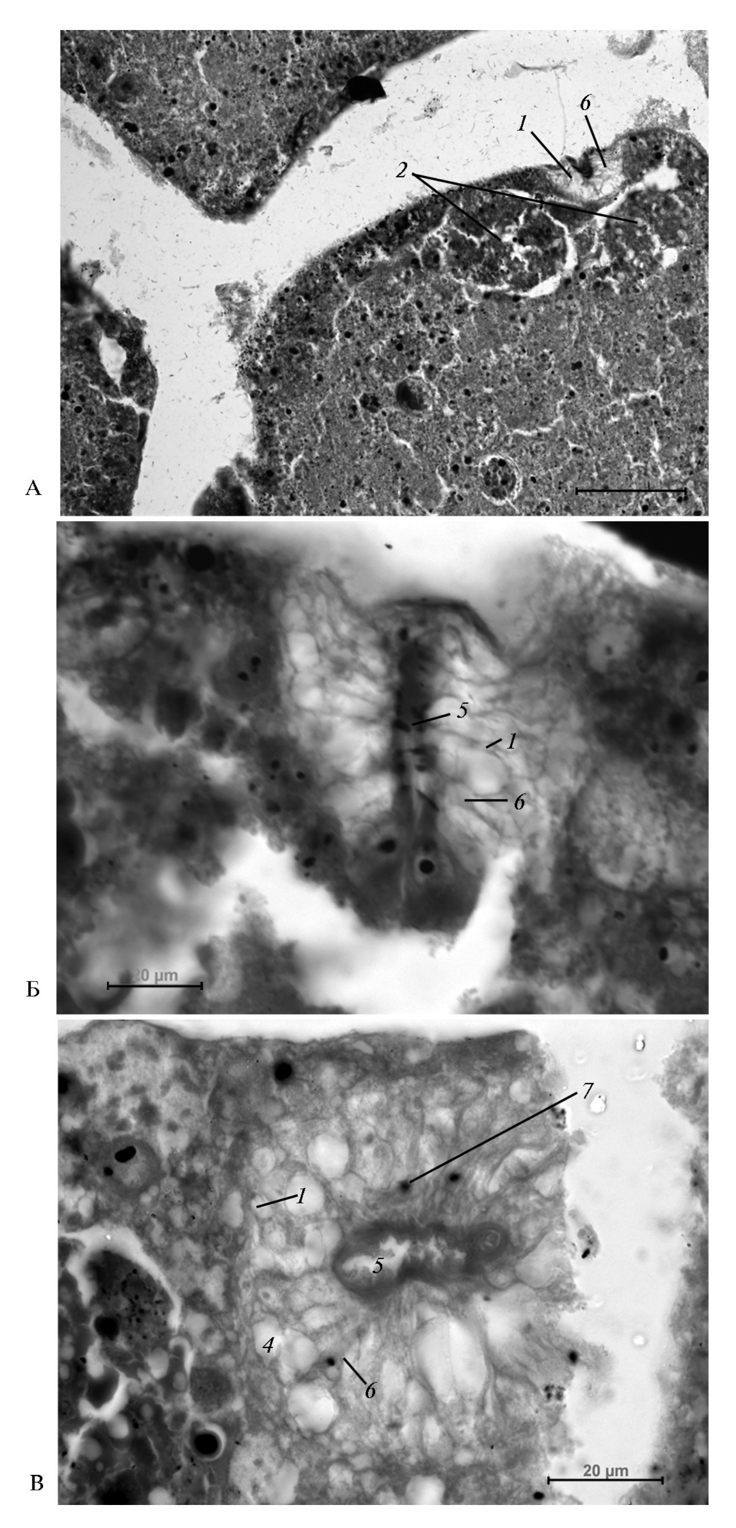


Рис. 4. Четвертые сутки эмбриогенеза: *1* — эмбриональная глотка; *2* — кишечные клетки; *3* — внутренние замыкающие клетки; *4* — внешняя стенка эмбриональной глотки; *5* — внутренняя стенка эмбриональной глотки; *6* — сетчатая структура; *7* — тела клеток. Масштабная линейка: А — 100 мкм, Б — 20 мкм, В — 20 мкм.

Fig. 4. Fourth day of embryogenesis: *1* — embryonic pharynx; *2* — gut cells; *3* — inner closing cells; *4* — outer wall of embryonic pharynx; *5* — inner wall of embryonic pharynx; *6* — reticulated structure; *7* — cell bodies. Scale bar: А — 100 µm, Б — 20 µm, В — 20 µm.

Schmidtea polychroa O. Schmidt, 1862. Мы предполагаем, что обнаруженные нами образования соответствуют этим клеткам.

Активно питающийся при помощи глотки зародыш не похож на взрослую форму и на более поздних стадиях подвергается некробиотическому метаморфозу (Иванова-Казас, 1975). С морфологической и физиологической точек зрения такой зародыш является «личинкой». Г. А. Шмидт (1951) называет ее несвободной или скрытой личинкой, а П. Акс (Ax, 1961) называет зародыш Tricladida «желточной» личинкой.

О. М. Иванова-Казас (1975) утверждает, что развитие Tricladida дает нам яркий пример ценогенетического изменения онтогенеза в связи с приспособлениями к определенным условиям среды. А. Кардона с коллегами (Cardona et al., 2006) при изучении эмбрионального развития *S. polychroa* подымают вопрос интерпретации личинки, которую авторы называют скрытой, в филогенетическом контексте. По их мнению, это либо личинка, которая развилась из истинной личиночной формы, либо это ответ на внутривидовую конкуренцию в связи с закладкой многочисленных зигот в единственном коконе. Эти авторы отдают предпочтение последней версии.

В связи с этим, на наш взгляд, возникает вопрос трактовки эмбриональной глотки. Возможны два ее варианта: 1) эмбриональная глотка рекапитулирует какой-то этап филогении планарий, т. е. она является первичной, а ее характерное строение представляет собой плезиоморфное состояние признака «морфология глотки»; 2) это случай эмбриональной адаптациии, когда нарушаются рекапитуляции, и формирование эмбриональной глотки — вторичное явление.

Наши данные могут быть интерпретированы в пользу второй версии. Так, известно, что глотка Acoela (у тех представителей, у которых она есть) и представителей других низших отрядов турбеллярий, а также Anthozoa и Ctenophora образуется путем инвагинации поверхностного эпителия (эктодермы) — простая голотка (pharynx simplex) и является прототипом, из которого развиваются все виды передней кишки (Беклемишев, 1964). Мы не наблюдали впячивания эмбрионального эпителия ни на одном из этапов раннего эмбрионального развития *D. lugubris.* Наоборот, в недифференцированной клеточной массе появляются в виде клеточных скоплений отдельные органы. То есть при формировании эмбриональной глотки *D. lugubris* и простой глотки представителей Acoela и др. вовлекаются разные тканевые источники.

Так как первичная функция сократительно-двигательного аппарата — не передвижение самого животного, а захват и заглатывание пищи (Беклемишев, 1964), то мы можем отметить в «личинке» *D. lugubris* лишь рекапитуляцию первичной функции сократительно-двигательного аппарата, а именно глотательную функцию эмбриональной глотки.

Таким образом, формирование экзолицетальных яиц вместе с многочисленными желточными клетками значительно модифицировало эмбриональное развитие Neoophora в целом и Tricladida в частности. Такое нарушение плезиоморфного спирального дробления, характерного для Archoophora, в частности Acoela и Polyclada (Tomas, 1986; Tekaya et al., 1999), определилось особыми условиями внутрикоконного питания личинки, что потребовало раннего формирования провизорных органов и отодвинуло морфогенез дефинитивных органов зародыша на более поздние стадии.

Беклемишев В. Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. В 2 т. Т. 2. Органология. — М. : Наука, 1964. — 448 с.

Заварзин А. А. Избранные труды. В 4 т. Т. 4. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. — М.; Л. : Изд-во АН СССР, 1953. — 720 с.

Иванова-Казас О. М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных: Простейшие и низшие многоклеточные. — Новосибирск : Наука, 1975. — 372 с.
Ромейс Б. Микроскопическая техника. — М. : Изд-во иностр. лит., 1953. — 720 с.
Шмидт Г. А. Эмбриология животных. Ч. 2. — М., 1951. — 404 с.
Ax P. Verwandschaftsbeziehungen und Phylogenie der Turbellarien // Ergebn. Biol. — 1961. — Bd. 24. — S. 1–68.
Cardona A., Hartenstein V., Romero R. Early embryogenesis of planaria: a cryptic larva feeding on maternal resources // Dev. Genes Evol. — 2006. — **216**. — P. 667–681.
Fulinski B. Die Keimblьtterbildung bei Dendrocoelum lacteum // Oerst. Zool. Anz. — 1916. — **47**. — S. 380–400.
Iijima J. Untersuchungen ьber den Bau und die Entwicklung der Sьsswasser Dendrocoelen // Zeitsch. Wiss. Zool. — 1884. — **40**. — S. 359–464.
Le Moigne A. Etude de development embryonnaire de Polycelis nigra (Turbellarie, Triclade) // Bull Soc Zool Fr. — 1963. — **88**. — P. 403–422.
Mattiesen E. Ein Beitrag zur Embryologie der Susswasserdendrocoelen // Zeitschr. f. Wiss. Zool. — 1904. — **77**. — S. 274–361.
Metschnikoff E. Die Embryologie von Planaria polychroa // Zeitsch. f. Wiss. Zool. — 1883. — **38**. — S. 331–354.
Stevens M. On the germ cells and the embryology of Planaria simplissima // Proc. Natl. Acad. Sci Phila. — 1904. — **56**. — P. 208–220.
Tekaya S., Sluys R., Zghal F. Cocoon production, deposition, hatchling, and embryonic development in the marine planarian Sabussowia dioica (Platyhelminthes, Tricladida, Maricola) // Invert. Rep. Dev. — 1999. — **35**, N 3. — P. 215–223.
Tomas M. B. Embryology of the Turbellaria and its phylogenetic significance // Hydrobiologia. — 1986. — **132**. — P. 105–115.